

백서 두개골 및 하악골 결손에서 bovine collagen matrix의 골형성 효과

윤정호¹, 정지희², 김진우², 김창성², 최성호², 조규성²

¹관동대학교 의과대학 명지병원 치과

²연세대학교 치과대학 치주과학 교실, 치주조직 재생 연구소

Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects

Jeong-Ho Yun¹, Jee-Hee Jung², Jin-Woo Kim², Chang-Sung Kim², Seong-Ho Choi², Kyoo-Sung Cho²

¹ Department of Dentistry, College of Medicine, Kwandong University, Myongji Hospital

² Department of Periodontology, Research Institute for Periodontal Regeneration, College of Dentistry, Yonsei University

Abstract

Bovine collagen matrix used in this study consists of a porous collagen matrix of bovine origin(spongiosa) and has been evaluated as potential candidates for bone regenerative therapy. It has been used in the oral cavity under a variety of indications. This study was performed to evaluate the bone formation effect of the bovine collagen matrix in rat calvarial and mandibular defects. Critical-sized eight-mm calvarial defects and five-mm mandibular defects were created in 60 male Sprague-Dawley rats using trephine bur. The animals were divided into 4 groups. Each group received one of the following: Control(Sham-surgery), and experimental(bovine collagen matrix) for calvarial defect and mandibular defects. In the mandibular defect model, both sides of the mandible were used for the experiment. Defects were evaluated by histologic and histometric parameters following 2- and 8-week healing intervals (10 animal/group/healing interval). Overall results were uneventful without any defect exposure or inflammation. The amount of new bone formation and bone maturity increased with the increase in healing period at each group. On histologic observation, a large amount of newly formed bone was observed in the experimental group. Moreover, bovine collagen matrix was observed at 2 weeks, but by 8 weeks, the bovine collagen matrix appeared to be completely absorbed. Histometric analysis revealed that the amount of new bone was significantly greater in the collagen matrix treated sites than in the control at 8 weeks in calvarial defects ($P<0.05$). Within the limits of the study, these results suggest that the use of the bovine collagen matrix on the calvarial and mandibular defects in rats has a beneficial effect on the regeneration of bone tissue.

Key words: bone formation, calvarial defect, collagen matrix, mandibular defect, rat

(Implantology 2010; 14(1): 32~43)

* 본 연구는 관동대학교 의과대학 명지병원 임상교수 연구비(2007년-4) 지원으로 수행됨.

I 서론

치과 분야에서 발치, 외상, 구강내 소수술, 악골 낭종 등 다양한 원인이 의해서 악골내에 골결손(bone defect)이 일어나게 되며, 양호하지 못한 골결손부 치유는 여러 가지 문제점을 발생시키게 된다. 치유 부전에 의해 골결손 형태가 커질 경우 기능적으로 저작 기능에 문제를 야기할 뿐만 아니라, 심미적으로도 문제를 발생시켜 환자의 삶의 질을 저하시키게 된다. 또한, 골치유(bone healing)가 정상적으로 되지 않을 경우, 이차적으로 감염등 새로운 문제를 발생시킬 수 있다.

따라서, 생성된 골 결손부를 보다 양호하게 치유시키고 보다 많은 골형성/골재생을 유도하는 것이 무엇보다도 중요하다. 아울러, 최근 치과 임플란트 식립이 널리 보급되고 보편화 되면서, 발치 및 기타 원인에 생긴 골결손을 보다 양호하게 치유하기 위한 요구가 커지고 있는 실정이다. 또한, 전신질환(당뇨, 고혈압 등)의 증가에 따라 골재생 과정에 문제를 나타내는 경우가 많아지고 있으며, 이를 위해서 부가적으로 골형성을 촉진할 수 있는 기술이 요구되어 지고 있다.

현재, 보다 양호한 골치유 및 골형성을 위한 다양한 방법과 기술이 시행되어 지고 있으나, 방법상 여러 장/단점을 지니고 있다. 파괴된 골조직의 재생을 위해서 골이식술(bone graft)과 골유도재생술(guided bone regeneration)이 임상에서 시행되고 있으나, 골조직 재생을 완벽히 유도하기에는 아직 미흡한 면이 있고, 임상적으로 한계점이 있는 형편이며, 골이식재(bone graft material) 및 차단막(membrane)의 감염, 노출 등의 문제점이 발생할 수 있다. 또한, 이러한 기술은 일반적으로 고도의 기술과 고가의 재료가 요구되며, 부가적인 수술이 요구되어 기술에 어려움을 지닌다. 한편, 콜라겐(collagen)은 골결손부에 적용 시에 골이식 및 차단막에 비해서 골재생 면에서는 떨어지나 보다 우수한 생체 친화성에 의해서

초기 골 창상 치유를 양호하게 할 수 있고, 골이식재 및 차단막에서 발생하는 문제점이 거의 일어나지 않는 장점을 지닌다. 아울러, 보다 다양한 형태의 골결손부에 부가적인 기술 없이 쉽게 적용할 수 있는 장점을 지닌다¹⁾.

최근 다양한 방법에 의해서 추출된 콜라겐(collagen) 재질의 재료가 연조직 및 경조직의 치유 및 재생에 사용되어 지고 있으며, 결합조직 및 골조직 치유에 양호한 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다²⁻⁶⁾. 그러나, 현재 치과 영역에서 쓰여 지고 있는 대부분의 콜라겐 재료는 소나 돼지의 인대 및 피부 진피층 등에서 추출한 연조직 기원의 콜라겐으로써 골치유에 적용 시에는 한계점을 나타낼 수 있다. 골조직을 보다 양호하게 형성하기 위해서는 골 조직 유래의 콜라겐이 필요하다고 할 수 있으며, 아울러 형태적 면에서도 sheet 형태가 아니 다소 volume을 유지하는 형태의 block이나 matrix 형태의 콜라겐이 치과 영역에서 발생하는 골 결손부에 적용하는데 유리할 것이다.

본 연구에서 사용되는 콜라겐 재료는 소뼈에서 추출된 콜라겐 기질로써, 골 결손부에 적용 시 골치유를 촉진시키는 것으로 보고된 바 있다. 또한, 다른 콜라겐 이식재와는 달리 피부나 인대의 콜라겐이 아닌 소의 sponge bone에서 추출된 콜라겐 기질로써, 기타 항원성이 제거되었으며, 다공성의 구조를 지녀 골조직 및 결합조직과 보다 친화성이 우수하여 구강내 골 결손부에 적용시 빠른 육아조직 형성을 가능케 하는 것으로 보고되고 있다⁷⁻⁹⁾. 더욱이, block 형태를 가지고 있어, 상기에 설명된 기존의 콜라겐 재료의 단점을 극복하여, 골조직에 보다 친화력을 갖고 기존 콜라겐과는 달리 wetting시에도 다소 volume을 유지하는 재료로, 치과 임상에서 발생하는 다양한 상황에서의 골결손 부위에 적용 가능하다.

그러나, 아직 본 연구에 사용된 bovine collagen matrix의 골재생 효과에 관해서 동물실험적으로 보고된 바가 없으며, 치과 영역에서의 여러 골결손부에 적용시의 효과에 대해서 연구가 거의 이루어지지 않은 실정이다. 아울러, collagen matrix의 골치유 및 골형성 효과에 대한 규명을 통해 colla-

gen matrix를 이용한 다양한 형태의 치료 술식 개발을 가능하게 하며, collagen matrix를 골재생 및 조직재생을 위한 성장인자의 전달체(carrier)로서의 사용 가능성을 타진해 볼 수 있는 기초를 마련할 수 있다.

이에 본 연구의 목적은 bovine collagen matrix가 외과적으로 형성된 백서 두개골 및 하악골 결손부에서 효과적으로 골조직의 치유 및 재생을 유도하는지를 조직학적 및 조직계측학적으로 알아보고자 한다.

II 연구 재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험 동물

본 연구에서 백서 두개골 결손부 모델과 하악골 결손부 모델에 각각 체중 250~300g의 웅성 백서 (Sprague-Dawley rat) 40마리와 체중 450~500g의 웅성 백서 20마리를 사용하였다. 실험부위로는 두개골과 하악골을 이용하였다. 실험

동물은 연세 임상 의학 연구센터의 동물실험 지침에 따랐다.

2. 연구방법

1) 실험군 설정

백서 두개골 및 하악골 결손부에 아무 처치도 하지 않은 군을 대조군으로 설정하고 bovine collagen matrix(Osteovit®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany)(Fig. 1)를 이식한 군을 실험군으로 설정하였다. 각 군은 수술 후 2주, 8주 치유기간을 두고 희생시켜 관찰하였으며, 각 군별로 10마리씩 배정하여 모두 60마리를 사용하였다. 백서 하악골 결손부는 좌, 우측을 사용하여 한쪽은 대조군, 다른 한쪽은 실험군으로 사용하였다.

2) 두개골 및 하악골 결손부 형성 및 외과적 처치

각 군의 백서에 Ketamine hydrochloride(Ketalar®, Yuhan Co., Seoul, Korea)와 Xylazine(Rompun, Bayer Korea, Seoul, Korea)을 4:1로 혼합하고 근육주사(70mg/kg)하여 전신마취 시켰다. 결손부 형성부위에 제모를 시행하고 povidone iodine으로 소독한 후, 수술 부위를 2%



Fig. 1. Disc-shaped bovine collagen matrix used in this study.

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

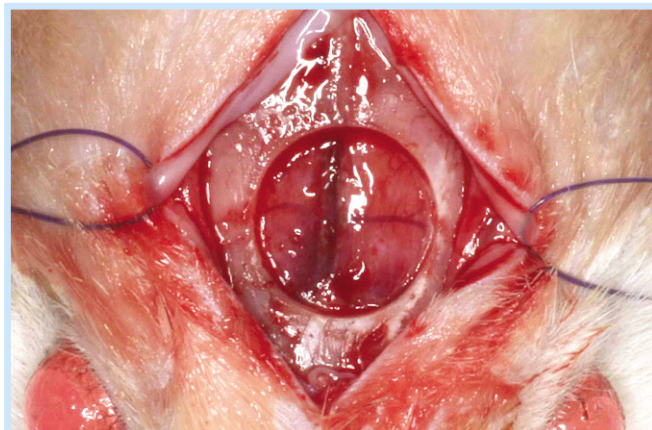


Fig. 2. The calvarial defect was produced to measure 8 mm in diameter with a trephine bur.

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

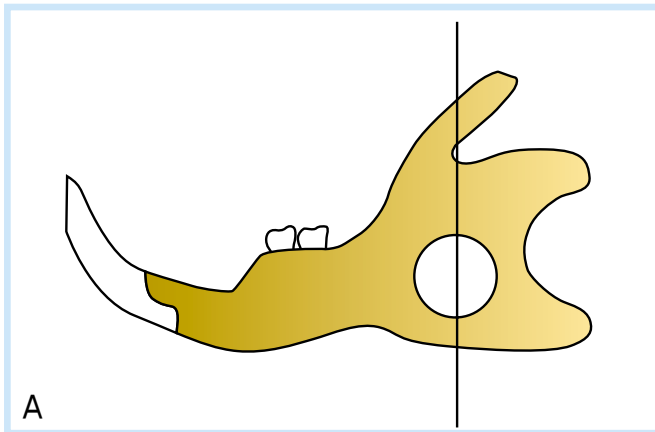


Fig. 3. (A) Schematic diagram of the 5mm in diameter, full-thickness, circular defect in the rat mandible. (B) X-ray appearance of a rat mandible postoperatively at 2 weeks, before sacrifice. Control mandible (without bovine collagen matrix).

Jeong-Ho Yun et al.: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

Lidocaine(2% lidocaine, 1:100,000 epinephrine, Kangmyung Pharm., Seoul, Korea)으로 침윤 마취하였다. 두개골 결손부 실험에서는 백서의 전두골 전방부에서 후방부까지 정중부를 따라 두피를 절개하여 두개골의 상면을 노출시켰다. 노출된 두개골의 상면에 외경 8mm trephine bur(3i, Palm Beach Gardens, FL, USA)를 이용하여 지름 8mm의 원형 결손을 형성하였다¹⁰⁾(Fig. 2). 실험군에는 직경 8mm, 높이 4mm의 bovine collagen matrix를 결손부에 위치시키며, 대조군은 아무 처치도 하지 않았다. 두피를 덮고 4-0 coated Vicryl(Polyglactin 910, braided absorbable suture, Ethicon, Johnson & Johnson Int., Edinburgh, UK)로 봉합하고, 1주후 발사하였다. 술 후 2주, 8주에 각 군의 동물을 희생하여 두개골을 적출하였다. 하악골 결손부 실험에서는 백서의 하악골 하연을 따라 절개를 시행한 뒤, 교근을 박리하여 하악골의 하악각 부위를 노출시켰다. 노출된 하악골의 하악지 부위에 외경 5mm trephine bur를 이용하여 지름 5mm의 원형 결손을 형성하였다¹¹⁾(Fig. 3). 실험군에는 직경 5mm, 높이 4mm의 collagen matrix를 결손부에 위치시켰으며, 대조군은 아무 처치도 하지 않았다. 절개 부위의 근육층과 피부를 4-0 coated Vicryl로 봉합하고, 1주후 발사하

였다. 술 후 2주, 8주에 각 군의 동물을 희생하여 하악골을 적출하였다.

3) 조직학적 관찰

실험동물을 술 후 각 군당 2주와 8주 후에 희생시키고, 실험부위를 적출하였다. 적출부위를 20% 중성 포르말린에 10일간 고정시킨 후, 7일간 EDTA-HCl로 탈회시킨 후 통법에 따라 paraffin에 포매하였다. 포매된 표본을 5 μ m 두께로 실험 부위 중단을 절편으로 만든 후, Hematoxyline-Eosin으로 염색 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

4) 조직계측학적 분석

20배 배율로 확대된 조직 표본 상을 컴퓨터모니터 상에 재현하고 3차원 영상 분석프로그램을 이용하여 신생골에 대한 조직계측학적 분석을 시행(Image-Pro Plus®, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA)하여, 결손부 내에 형성된 신생골의 면적(mm²)을 계측하였다. 이 값을 각 주별로 평균내어 군 간 비교하였다.

5) 통계학적 분석

통계 분석 시행시 결손부의 신생골 형성량을 비교하기 위해 조직학적 계측 결과는 평균±표준편차로 표현하고, two-way ANOVA를 이용하여 군과 시간 두 변수간의 상관관계를 확인하였다. Unpaired t-test를 이용하여 시간별로 군 간 유의한 차이가 존재하는지를 검증하였다. 유의수준은 $P<0.05$ 로 하였다.

III 결과

1. 임상적 관찰

치유양상은 일반적으로 특이점 없이 각 군간 유사하게 진행되었다. 이식부위의 노출이나 염증소견, 그리고 수술부위의 다른 합병증은 나타나지 않았다. 결손부를 포함한 두개골 및 하악골 부위에 대해 조직학적 평가가 이루어 졌다.

2. 조직학적 관찰

1) 대조군

① 2주 소견 (Fig. 4-A, Fig. 5-A)

두개골 및 하악골 결손부 모두 결손부의 대부분은 섬유성 결합 조직으로 채워져 있었으며, 염증세포들이 관찰되었다. 아울러, 출혈 및 육아조직이 관찰되었다. 신생골 형성은 결손부 변연에서 미약하게 관찰되었으며 결손부의 중앙은 연조직의 함몰로 인해 붕괴되어 있었다. 신생골은 조골세포에 의해 둘러싸여 있는 것이 관찰되었으며, 기존의 잔존골과 신생골 사이에 반전양상(reversal line)이 관찰되고 있었다.

② 8주 소견 (Fig. 4-B, Fig. 5-B)

두개골 결손부에서 결손부는 얇고 성긴 불규칙한 섬유성 결

합조직으로 채워져 있으며, 2주에 비하여 8주에서는 신생골의 형성 정도나 결손부의 폐쇄정도가 더 일어난 양상이었지만 그 정도는 크지 않았다. 하악골 결손부에서, 2주에 비해 신생골 주위로 비교적 잘 정돈된 균일한 밀도의 결합조직이 관찰되고 있었다. 아울러, 2주에 비하여 8주에서 보다 많은 신생골 형성이 관찰되었으며, 신생골의 형상은 교직골에서 층판골로 대체되어 골의 성숙이 일어나고 있는 것으로 보였다.

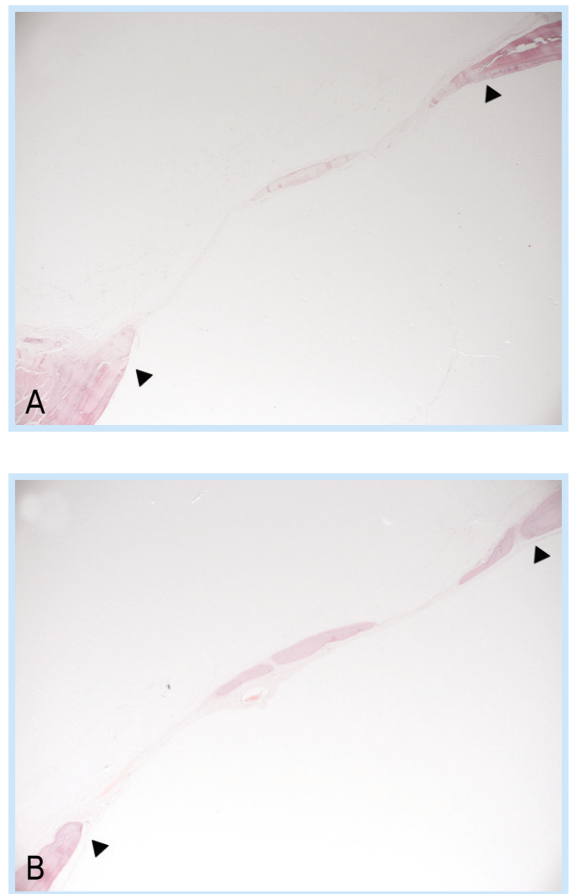


Fig. 4. Representative photomicrographs of calvarial defects receiving the sham-surgery control at 2 weeks (A) 8 weeks (B). Thin, fibrous connective tissues may be observed between the defect margins (▲=defect margin; H&E stain; original magnification $\times 16$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

2) 실험군

① 2주 소견

두개골 결손부에서 같은 시기의 대조군에 비해 많은 혈관 증식이 보였고 조골세포의 침윤이 관찰되었다. 대조군에 비해, 더 광범위한 범위에서 결손부 변연에서 신생골 형성이 진행되고, 결손부의 중앙에서도 collagen matrix 주변으로 얇고 성긴 망상골 양상으로 골형성이 일어나고 있는 것이 관찰되었다.

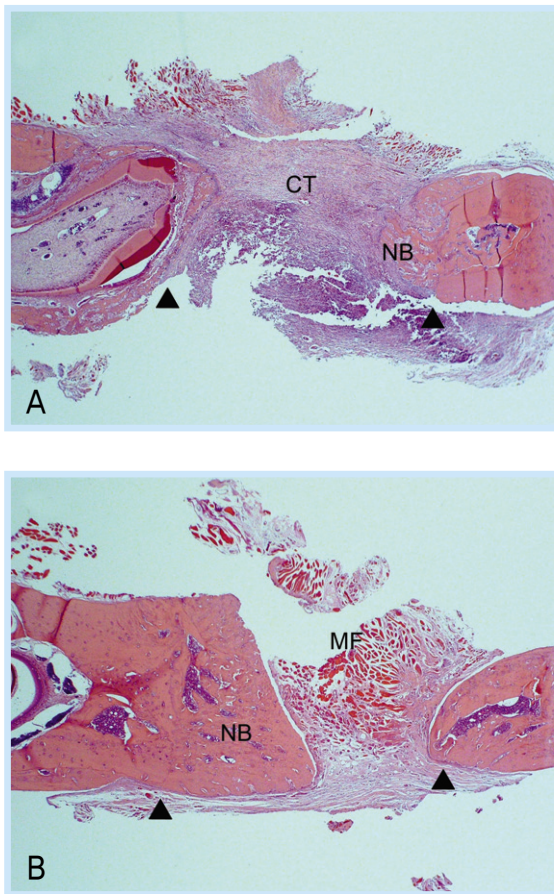


Fig. 5. Representative photomicrographs of mandibular defects receiving the sham-surgery control at 2 weeks (A) 8 weeks (B). Thick, fibrous connective tissues and muscle fibers may be observed between the defect margins, New bone formation was observed adjacent to the margins of the defect. At 8 weeks, more muscle fiber invagination was observed (▲=defect margin; NB=new bone; CT=connective tissue; MF=muscle fiber; H&E stain; original magnification $\times 20$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

흡수되지 않은 콜라겐 잔사들이 성긴 결합조직과 골조직에 의해 둘러싸여 있는 것이 관찰되며, 대조군과 마찬가지로 신생골 말단 부위에 조골세포들이 둘러싸고 있으며 골성조직이 나타나는 것을 관찰할 수 있다. 결손부의 결합조직에 많은 혈관의 증식이 나타나며, 대조군에 비해 섬유성 결합조직의 밀도가 높고 섬유아세포들이 많이 관찰되고 있다(Fig. 6).

하악골 결손부에서는 두개골 결손부에 비해 결손부 변연에

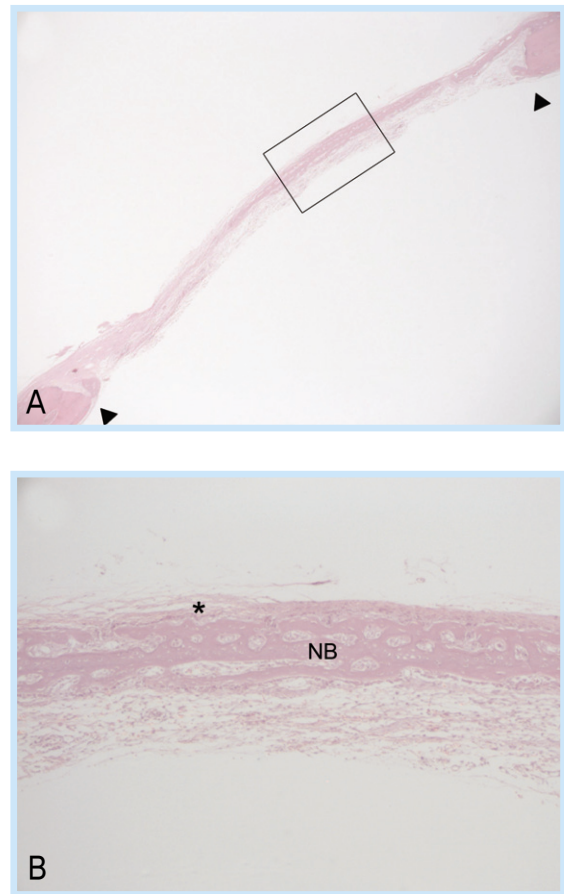


Fig. 6. Representative photomicrograph of calvarial defects receiving the bovine collagen matrix at 2 weeks (B; boxed area in A). New bone formation was observed between and besides the margins of the defect. Some degraded collagen fragments were observed around the newly formed bone (▲=defect margin; *=collagen fragments; NB=new bone; H&E stain; original magnification: A $\times 16$ and B $\times 100$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

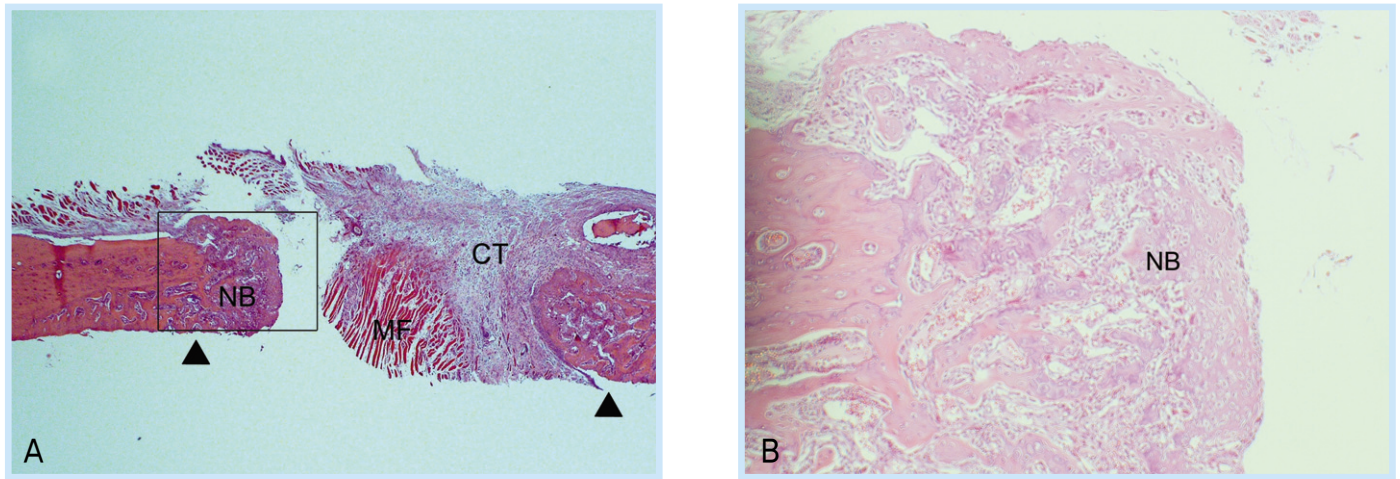


Fig. 7. Representative photomicrographs of mandibular defects receiving the bovine collagen matrix at 2 weeks (B; boxed area in A). The histological observation of the defect was similar to sham-surgery control. The collagen matrix biomaterial appears to be already absorbed at 2 weeks (▲=defect margin; NB=new bone; CT=connective tissue; MF=muscle fiber; H&E stain; original magnification: A $\times 20$ and B $\times 100$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

서 보다 많은 골형성이 관찰되었고, 결손부의 중앙부위에는 보다 치밀한 결합조직이 형성되어 있는 것이 관찰되었다. 아울러, 두개골 결손부에 비해 하악골 결손부에서는 잔존하는 collagen matrix가 드물었으며, 결손부 중앙으로 근육 섬유 증식이 관찰되었다(Fig. 7).

② 8주 소견 (Fig. 8, Fig. 9)

결손부 변연에서는 골 성숙과 골 개조가 이루어지면서 기존 골과 혼화되는 양상을 보였고, 말단부에는 아직 골성조직 층을 이루며 계속 골형성이 진행되고 있음을 보였다. 콜라겐은 모두 흡수되어 관찰되지 않았다. 밀집된 결합조직이 일정한 방향성을 갖고 나열되어 있었다. 2주와 마찬가지로 결손부의 3면에서 신생골 형성이 이루어지고 있다. 2주 소견에 비하여 조골세포와 골성조직이 감소되었으나 조직내에 계속적으로 나타나는 것이 관찰되었다. 결손부의 변연에서 강내에 갇힌 골세포가 많이 관찰되고 골조직이 치밀하여져서 골이 성숙화 되는 형태를 관찰할 수 있으며, 골 개조가 이루어져서 기존 골과 혼화되는 양상이 나타난다. 기존 골과 신생골 간의 경계가

명확하지 않았으며, 이로 보아 혼화가 진행되고 있음을 알 수 있었다. 하악골 결손부에서는 결손부 중앙으로 2주에 비해 보다 성숙되고 증가된 근육 섬유의 증식이 관찰되었다.

3. 조직계측학적 분석

1) 두개골 결손부 (Table 1)

두개 결손부의 신생골 형성량은 2주와 8주에 각각 대조군은 $0.158 \pm 0.103 \text{ mm}^2$, $0.207 \pm 0.117 \text{ mm}^2$, collagen matrix 실험군에서는 $0.493 \pm 0.192 \text{ mm}^2$, $1.540 \pm 0.623 \text{ mm}^2$ 로 나타났다. 2주와 8주를 비교하였을 때 실험군에서 통계학적으로 유의하게 8주에서 더 높은 신생골 형성을 나타냈으며, 대조군과 실험군을 비교하였을 때는 2주, 8주 모두에서 통계학적으로 유의하게 실험군에서 증가된 신생골 형성량을 보였다.

2) 하악골 결손부 (Table 2)

하악골 결손부의 신생골 형성량은 2주와 8주에 각각 대조군은 $1.917 \pm 1.389 \text{ mm}^2$, $4.623 \pm 2.128 \text{ mm}^2$, collagen matrix

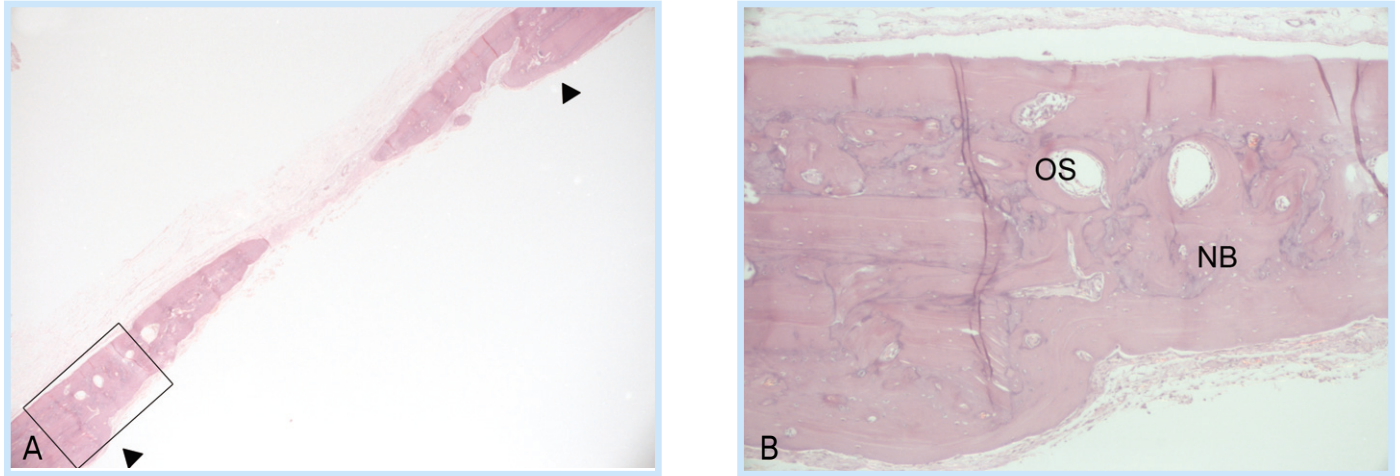


Fig. 8. Representative photomicrograph of calvarial defects receiving the bovine collagen matrix at 8 weeks (B; boxed area in A). New bone formation was observed between and besides the margins of the defect. There was observed a lot of consolidations of lamellar bone. The collagen matrix biomaterial appears completely absorbed (▲=defect margin; NB=new bone; OS=osteon; H&E stain; original magnification: A $\times 16$, B $\times 100$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

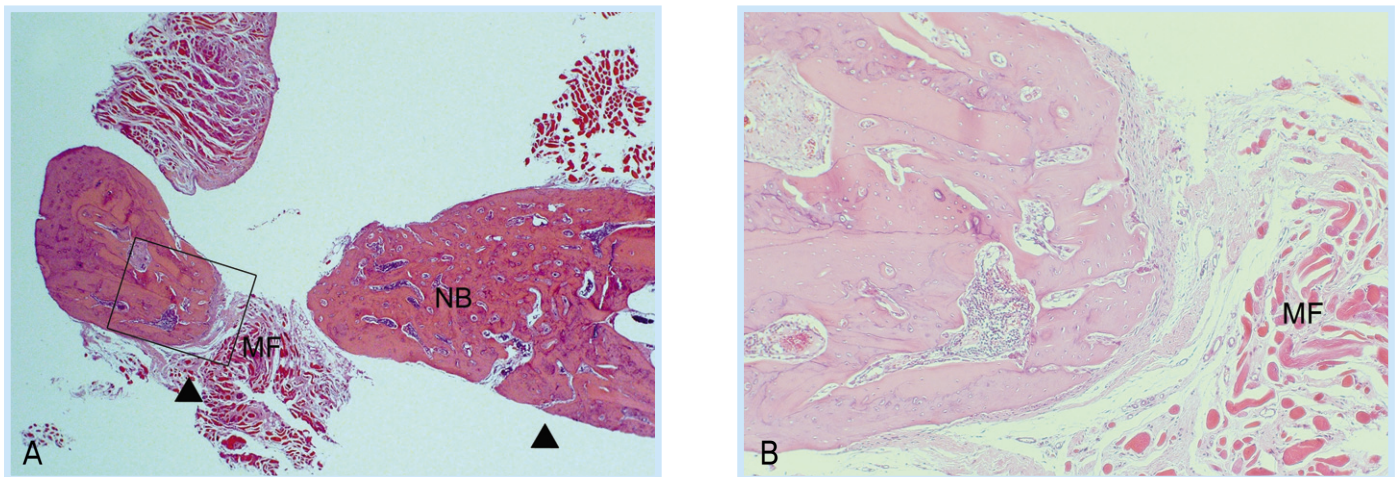


Fig. 9. Representative photomicrographs of mandibular defects receiving the bovine collagen matrix at 8 weeks (B; boxed area in A). The histological observation of the defect was similar to sham-surgery control (▲=defect margin; NB=new bone; CT=connective tissue; MF=muscle fiber; H&E stain; original magnification: A $\times 20$ and B $\times 100$).

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

실험군에서는 $2.074 \pm 1.074 \text{ mm}^2$, $5.186 \pm 2.190 \text{ mm}^2$ 으로 나타났다. 2주와 8주를 비교하였을때 대조군과 실험군 모두에서 통계학적으로 유의하게 8주에서 더 높은 신생골 형성을 나타

냈으며, 대조군과 실험군을 비교하였을 때는 2주, 8주 모두에서 통계학적으로 유의성이 관찰되지 않았다.

Table 1. New Bone Area (group mean \pm SD, mm²)

Group	2 weeks (N)	8 weeks (N)
Control group (sham surgery)	0.158 \pm 0.103 (10)	0.207 \pm 0.117 (10)
Experimental group (bovine collagen matrix)	0.493 \pm 0.192* (10)	1.540 \pm 0.623*† (10)

* Statistically significant difference compared to sham-surgery control group (P <0.05)

† Statistically significant difference compared to 2 weeks group (P <0.05)

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

Table 2. New Bone Area (group mean \pm SD, mm²)

Group	2 weeks (N)	8 weeks (N)
Control group (sham surgery)	1.917 \pm 1.389 (10)	4.623 \pm 2.128* (10)
Experimental group (bovine collagen matrix)	2.074 \pm 1.074 (10)	5.186 \pm 2.190* (10)

* Statistically significant difference compared to 2 weeks group (P <0.05)

Jeong-Ho Yun et al: Effect of the bovine collagen matrix on bone formation in rat calvarial and mandibular defects. *Implantology* 2010

IV 고찰

치과 영역뿐만 아니라 정형외과적 분야에서 골결손의 치료는 임상에게 중요한 요소가 되고 있다. 다양한 원인에 의해 상실된 골조직을 재생하는데 여러 가지 이식재가 사용될 수 있다. 이러한 이식재의 이상적인 조건으로 골 형성 유도능력이 있어야 하며 염증 반응이 없고 빠른 혈관형성이 이루어지고 숙주조직에 친화성이 있어야 하며 사용이 용이하고 경제적이어야 한다고 보고된 바 있다¹²⁾. 이러한 조건을 갖는 이식재로서 자가골, 동종골, 이종골, 골대체물과 합성골 등이 개발되어 각각의 장/단점을 지니고 실험 및 임상에서 다양하게 사용되어 왔으나 여러 가지 문제점을 보여 왔다. 골 이식재의

궁극적인 목적이 골이식재의 신생골에 의한 치환이므로, 골 친화성이 우수하고, 골재생에 따라 적절히 흡수될 수 있는 생분해성 골이식재에 대한 관심이 증가되고 있다. 이러한 생체 이식재 중의 한 가지가 type-I 콜라겐이다¹³⁾. 콜라겐 계통의 제재가 현재 골결손부 및 골재생에 흔히 사용되어지고 있으며, 이러한 생체분해성 물질은 창상치유, 조직재생 등에서 점차 그 중요성이 증가하고 있다.

콜라겐은 골재생 측면에서 여러 가지 매력적인 생물학적 특징을 지닌다: 낮은 면역 반응, 조골 세포 부착, 지혈작용, 조직으로부터 획득 용이. 이러한 이유로 다양한 콜라겐을 기초로 한 생체재료가 골결손의 치료에 적용되어져 왔으며^{4-6,14,15)}, 창상치유, 조직재생 및 성장인자의 전달체 등의 기능으로 인해 점차 그 중요성이 증가하고 있다.

본 연구에서 사용된 bovine collagen matrix는 순수한

type-I 콜라겐으로, 조골세포의 성장에 강한 자극 효과를 지니고, 콜라겐 합성을 크게 증가시킨다고 보고된 바 있다. 이러한 이유로 골결손 부위를 bovine collagen matrix로 충전하는 것이 빠르고 양호한 골 성장을 위해서 매우 적절한 방법이라고 제시되었다¹⁶⁾. 뿐만 아니라, type-I 콜라겐과 수산화인회석은 골조직의 주요한 구성인데, 이중 콜라겐 자체는 세포 표면에 있는 integrin adhesion receptor와 작용하는 세포 부착을 유발하는 특징적인 아미노산 motif를 담고 있다. 그러므로, 콜라겐에 기초한 이식재는 인접 조직으로부터의 세포 부착, 이주, 성장을 촉진하는 고유한 능력을 가지고 있다고 할 수 있다¹⁷⁾. 이와 일치하게 본 연구의 결과에서도 조직학적, 조직계측학적으로 대조군에 비해 bovine collagen matrix를 적용한 실험군에서 유의성 있게 골형성이 증가되는 것이 관찰되었다(Fig. 6~9). 이러한 증가된 osteoneogenesis는 이전에 보고된 바와 같이 조골세포와 같은 골재생에 관련된 인근 세포에 대한 콜라겐의 자극효과에 기인한 것으로 볼 수 있을 것이다¹⁸⁾. 아울러, 본 실험에서 사용된 bovine collagen matrix를 임상적으로 적용한 문헌 보고에서, collagen matrix를 나중 적출 후 골결손에 적용했을 때, 8개월 경과 후에 36%에서 골결손부가 완전히 골화되고, 57%에서 골결부의 크기가 줄어들었다고 입증되었다¹⁹⁾.

한편, 본 실험에서 bovine collagen matrix 적용 후, 두개골 결손부 및 하악골 결손부 모두에서 2주와는 다르게 8주에서 콜라겐이 거의 흡수되어 잔존하지 않는 것이 조직학적으로 관찰되었다(Fig. 8, Fig. 9). 이처럼 생체내에서 bovine collagen matrix가 점차적으로 흡수되는 동안 새로운 골조직이 생성되는 이상적인 골이식재의 특성을 보여, 합성골이나 이종골과는 달리 보다 생체친화적이라고 볼 수 있다.

이식재의 화학적 구성과 물리적 성질은 이러한 재료의 효능을 결정짓는 가장 중요한 요소이다. 일반적으로, 조직 이식에 사용되는 가장 흔한 생체재료들은 두 가지로 구분지어 진다: 합성이식재와 천연이식재. 콜라겐을 기초로한 생체재료는 가장 널리 사용되는 천연 중합체이다²⁰⁾. 이러한 생체재료로서 콜

라겐의 가장 주요한 이점은 매우 조직화된 구조와 다양한 생체 조직 내에서의 널리 존재하여 다양한 조직의 성장을 지지할 수 있다는 점이다. 그러나, 이러한 구조는 기계적 강도 같은 성질 대해서는 다소 불량하게 작용하기 때문에, 보다 양호한 성질을 위해서는 부가적인 처리가 요구된다²⁰⁾. 이와 관련하여, 콜라겐 매트릭스가 초기에 섬유성 연조직이 골결손부로 증식되는 것을 다소 방지하는 기능을 하여 골조직이 형성될 수 있는 환경을 제공하는 것으로 여러 문헌에서 보고된 바 있으나⁴⁾, 본 실험에 사용된 collagen matrix 결과에서 관찰되듯이 이러한 콜라겐 자체는 기계적 강도가 약하기 때문에, 장기간 공간을 유지하는 능력은 없는 것으로 보여 진다. 이는 조직학적 관찰에서도 하악골 결손부와 같이 주위 연조직이나 근조직의 침투력이 강한 상황에서는 이러한 조직의 증식을 억제하는 능력이 떨어지는 것으로 확인 할 수 있다(Fig. 7, Fig. 9). 그러므로, 현재의 bovine collagen matrix는 이식재가 잘 유지될 수 있는 형태를 가지는 골결손부에 적용하는 것이 보다 양호한 골형성 결과를 가져 올 수 있다고 사료된다.

본 연구에서는 bovine collagen matrix의 골재생 유도 능력을 평가하기 위해서 백서 두개골 결손부 및 하악골 결손부 실험 모델을 선택하였다²¹⁻²³⁾. 아무런 처치를 하지 않았을 때 10% 이하의 골 재생을 이루는 가장 작은 크기의 결손부를 임계 크기 결손(Critical Size Defect, CSD)이라고 한다. 이번 연구에 사용한 백서의 두개골 및 하악골 모델에서의 임계 크기 결손은 각각 지름 8 mm와 5 mm의 원형 결손이다. 본 실험 결과 두개골 결손부에서는 조직계측학적으로 8주에서의 신생골 형성량이 대조군보다 통계적으로 유의성을 가지고 높게 나타났으나, 하악골 결손부에서는 신생골 형성량이 대조군에 비해 높았으나 통계적인 유의성을 나타내지는 않았다(Table 1, Table 2). 이는 앞에서 언급한 바와 같이 하악골 결손부에서는 조직치유 과정에서 인접 결합조직과 근육 조직의 결손부내로의 침투력이 커서 이식재인 collagen matrix가 오랜 기간 유지되지 않고 보다 일찍 흡수되는 과정을 거치기 때문인 것으로 사료된다. 이식재의 조기 흡수에 의해 골전도성이

상실되어 신생골 형성량이 대조군과 큰 차이를 갖지 않는 것으로 생각된다. 아울러, 결손부 모델 측면에서도, 결과에서 나타나듯이 하악골 결손부 모델에서는 이전의 보고와 달리 대조군에서도 결손부 골재생량이 많기 때문에(Fig. 5, Table 2), 이식재의 골재생에 대한 연구를 위해서는 하악골 결손부 보다 두개골 결손부 모델을 적용하는 것이 바람직하다고 보여진다.

부가적으로 collagen matrix의 다른 활용 장점으로는 전달 체로의 기능이다. collagen matrix는 성장인자나 골화세포를 가지고 이식될 수 있으며, 이를 통해 골재생을 위한 조직공학 기술에 사용될 수 있는 가능성을 지닌다. Collagen matrix 자체의 생체친화성과 양호한 골치유 및 재생능력은 골형성 단백질과 같은 인자의 골재생 능력을 부가적으로 증진시킬 수 있으며, 이러한 가능성은 여러 보고에서 입증되었다. Pradel 등⁹⁾은 하악골 낭종 적출 후에 생성된 골결손 부위를 자가골 및 bovine collagen matrix에서 증식된 자가 조골세포를 이식한 후, 12개월 동안 골형성에 대해 조사한 결과 bovine collagen matrix를 이용하여 조직공학적으로 생성된 골이 자가골 이식 부위와 차이가 없음을 보고한 바 있다.

V 결론

본 연구는 백서 두개골 및 하악골 결손부에 bovine collagen matrix의 적용이 골조직 재생에 미치는 효과를 관찰, 평가하기 위하여 시행되었다. 결과적으로 bovine collagen matrix는 백서 두개골 및 하악골 결손부에서 효과적인 골재생과 생분해성을 나타내었다.

결론적으로, 본 실험에서 조사된 collagen matrix는 골전도성과 생분해성이 양호한 골이식재료 골결손부의 치유 및 재생에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 그러므로, 치유부전이 예상되거나 상당한 골 결손이 예상되는 진행된

치주질환에 의한 치아발치시나 구강내 자가골 채취나 매복치 발치, 낭종 제거 등에 의해 골결손이 발생하는 경우 보다 양호한 골치유와 재생을 위해 자가골 및 기타 골이식재를 대체하여 보다 손쉽게 사용될 수 있을 것이다.



참고문헌

1. Patino MG, Neiders ME, Andreana S, et al. Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. *J Oral Implantol*. 2002;28(5):220-225.
2. Ueda M, Okubo H, Fujimoto Y, et al. Effect of the atelocollagen sponge on healing of bone defects. *Journal of the Japanese Stomatological Society*. 1994;43:363-368.
3. Liu LS, Thompson AY, Heidaran MA, et al. An osteoconductive collagen/hyaluronate matrix for bone regeneration. *Biomaterials*. 1999;20(12):1097-1108.
4. Saadeh PB, Khosla RK, Mehrara BJ, et al. Repair of a critical size defect in the rat mandible using allogenic type I collagen. *J Craniofac Surg*. 2001;12(6):573-579.
5. Rocha LB, Brochi MA, Bellucci AD, Rossi MA. Efficacy of polyanionic collagen matrices for bone defect healing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004;71(2):355-359.
6. Fuerst G, Reinhard G, Tangl S, et al. Effect of platelet-released growth factors and collagen type I on osseous regeneration of mandibular defects. A pilot study in minipigs. *J Clin Periodontol*. 2004;31(9):784-790.
7. Zamboni G, Grano M. Biomaterials in orthopaedic surgery: effects of different hydroxyapatites and demineralized bone matrix on proliferation rate and bone matrix synthesis by human osteoblasts. *Biomaterials*. 1995;16(5):397-402.
8. Choi BH, Lee SH, Huh JY, Han SG. Use of the sandwich osteotomy plus an interpositional allograft for vertical augmentation of the alveolar ridge. *J Craniomaxillofac Surg*. 2004;32(1):51-54.
9. Pradel W, Eckelt U, Lauer G. Bone regeneration after enucleation of mandibular cysts: comparing autogenous grafts from tissue-engineered bone and iliac bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):285-290.

10. Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura to Bone Morphogenetic Protein(BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg.* 1982;196:100-109.
11. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg.* 1988;81(5):672-676.
12. Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W. Iliac transplants in periodontal therapy. *J Periodontol.* 1970;41(10):566-580.
13. Patino MG, Neiders ME, Andreana S, et al. Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. *J Oral Implantol.* 2002;28(5):220-225.
14. Toung JS, Ogle RC, Morgan RF, Lindsey WH. Repair of a rodent nasal critical-size osseous defect with osteoblast augmented collagen gel. *Laryngoscope.* 1999;109(10):1580-1584.
15. Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S, et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials.* 2004;25(23):5387-5393.
16. Zamboni G, Grano M. Biomaterials in orthopaedic surgery: effects of different hydroxyapatites and demineralized bone matrix on proliferation rate and bone matrix synthesis by human osteoblasts. *Biomaterials.* 1995;16(5):397-402.
17. Hubbell JA. Biomaterials in tissue engineering. *Biotechnology (N Y).* 1995;13(6):565-576.
18. Masi L, Franchi A, Santucci M, et al. Adhesion, growth, and matrix production by osteoblasts on collagen substrata. *Calcif Tissue Int.* 1992;51(3):202-212.
19. Hemprich A, Lehmann R, Khoury F, et al. [Filling cysts with type 1 bone collagen]. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1989;44(8):590-592.
20. Nimni ME, Cheung D, Strates B, et al. Chemically modified collagen: a natural biomaterial for tissue replacement. *J Biomed Mater Res.* 1987;21(6):741-771.
21. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop.* 1986;205:299-308.
22. Selvig KA. Discussion : Animal models in reconstructive therapy. *J Periodontol.* 1994;65:1169-1172.
23. Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-sized bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg.* 1998;9(4):310-316.

교신저자: 윤정호
 주소: 412-270 경기도 고양시 덕양구 화정동 697-24 관동대학교
 의과대학 명지병원 치과
 Tel: 031)810-5423 Fax: 031)969-0500
 e-mail: grayheron@hanmail.net
 원고접수일: 2010. 2. 1
 게재확정일: 2010. 2. 5